

**Über die maximale
B-Zellenstimulation der Bauchspeicheldrüse
bei Stoffwechselgesunden**

von
Heinz Friedrich Clas
aus
Erlangen

1970

Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. L. Demling

**Über die maximale
B-Zellenstimulation der Bauchspeicheldrüse
bei Stoffwechselgesunden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Heinz Friedrich Clas

aus

Erlangen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. Wolfgang Schiefer

Referent: Professor Dr. med. Ludwig Demling

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 12. 1970

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	5
Material und Methodik	6
Ergebnisse	7
Diskussion	8
Zusammenfassung	11
Literaturverzeichnis	12
Abbildungen und Tabellen	14
Lebenslauf	19

Reproduzierbare Aussagen über die sekretorische Kapazität der B-Zellen des menschlichen Inselapparates sind nur unter den Bedingungen einer maximalen Stimulation zu erwarten. Vergleichende Ergebnisse über B-Zellenstimulationen wurden 1967 von RYAN, NIBBE und SCHWARTZ publiziert (4). Ihre Untersuchungen zeigten, daß es nach intravenöser Applikation von 0,5 g Tolbutamid oder 1 mg Glukagon zu einem schnellen Anstieg des immunologisch meßbaren Insulins im Plasma kam. Die gleichzeitige Injektion beider Substanzen verdoppelte den Insulinanstieg. Maximale Insulinkonzentrationen wurden jedoch erst bei Vorbehandlung mit 75 g oral verabreichter Glucose und nachfolgender kombinierter Injektion von 0,5 g Tolbutamid und 1 mg Glukagon erzielt. Deshalb wurde an stoffwechselgesunden Probanden untersucht, ob die unter den Bedingungen der maximalen B-Zellenstimulation gewonnenen Resultate auch bei modifizierter Arbeitstechnik und Anwendung anderer Methoden zur Blutzucker- und Insulinbestimmung (2, 3, 5, 6) mit denen von RYAN und Mitarbeitern vergleichbar sind.

Material und Methodik

An 10 freiwilligen stoffwechselgesunden Versuchspersonen im Alter von 23 - 34 Jahren und ohne Hinweis auf Diabeteserkrankungen in der Familie wurde eine maximale, nach RYAN modifizierte B-Zellenstimulation durchgeführt, die in Abb. 1 schematisch wiedergegeben ist.

Der nüchterne Proband erhält nach Abnahme von 5 ml Venenblut 100 g Glucose in 700 ml Tee innerhalb von 5 - 6 Minuten zu trinken. 30 Minuten nach der Nüchternblutentnahme müssen weitere 5 ml Venenblut abgenommen und sofort anschließend rasch nacheinander 1 mg Glukagon und 0,5 g Tolbutamid i.v. injiziert werden. Weitere Entnahmen von je 5 ml Venenblut erfolgen 1, 5, 10, 20 und 30 Minuten nach der kombinierten Injektion, so daß die Untersuchung innerhalb von 60 Minuten beendet ist.

Jede Blutprobe wurde 15 Minuten lang zentrifugiert und in allen Seren der Blutzucker enzymatisch (2) und das Insulin radioimmunologisch nach der von YALOW und BERSON angegebenen (5, 6) und von NIEMANN modifizierten Methode (3) bestimmt.

Beide Methoden wiesen in unserem Laboratorium eine befriedigende Präzision auf (Reproduzierbarkeit in der Reihe: Blutzucker-VK 2,03 %; IMI-VK 8,4 %, Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag: Blutzucker-VK 4 %; IMI-VK 17,2 %).

Bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse wurden Mittelwerte, Standardabweichungen und 95 %-Vertrauensgrenzen der Mittelwerte der zu den verschiedenen Zeitpunkten des Stimulationsversuches gemessenen Blutzucker- und Insulinkonzentrationen bestimmt. Die Dynamik der Insulinsekretion und das zeitliche Verhalten des Blutzuckers im Venenblut wurden mittels der zweifachen Varianzanalyse geprüft.

Ergebnisse

In Abb. 2 sind die im Serum gemessenen Insulin (IMI)- und Blutzuckerwerte während der Stimulation mit Glucose, Tolbutamid und Glukagon graphisch dargestellt.

30 Minuten nach Versuchsbeginn zeigte sich ein im Vergleich zum Ausgangswert deutlich erhöhter Blut-

zucker ($p < 0,005$) sowie ein höherer Insulinhalt ($0,05 > p > 0,01$). Während die Blutzuckerwerte nach der kombinierten Injektion mit Glukagon und Tolbutamid weitgehend unverändert blieben ($p > 0,05$) und erst gegen Ende des Versuches signifikant abfielen ($0,05 > p > 0,01$), erreichte das Insulin sehr schnell hohe Konzentrationen ($p < 0,005$), die in der Folgezeit rasch wieder abfielen ($p < 0,005$).

In den Tab. 1 und 2 sind die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Stimulationsversuches gemessenen Insulin- und Blutzuckerkonzentrationen zusammengefaßt. Gleichzeitig ist das mit der zweifachen Varianzanalyse untersuchte dynamische Verhalten dieser beiden Parameter für den Ablauf der Stimulation wiedergegeben.

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen im wesentlichen die von RYAN und Mitarbeitern erzielten Befunde (4). Das angewandte Stimulationsverfahren wurde in der Weise modifiziert, daß alle

Probanden statt 75 g 100 g Glucose erhielten. Nach der kombinierten Injektion von Glucose und Tolbutamid erfolgten neben den vorgeschlagenen Blutentnahmen (1, 5 und 10 Minuten nach der kombinierten Injektion) noch 2 zusätzliche nach 20 und 30 Minuten, um die Dynamik der Insulinsekretion durch weitere Punkte zu kennzeichnen. Die beschriebene maximale Stimulation erscheint geeignet, die sekretorische Kapazität der B-Zellen des Inselapparates zu prüfen. Während RYAN eine mittlere maximale Insulinkonzentration von weniger als 500 $\mu\text{E}/\text{ml}$ erzielte, wurde unter den veränderten Arbeitsbedingungen eine mittlere maximale Insulinkonzentration von 829,9 $\mu\text{E}/\text{ml}$ gemessen. Der Anstieg des immunologisch meßbaren Insulins kann nicht der geringen Insulinmenge, die im Glukagon enthalten ist, zugerechnet werden. Der IMI-Gehalt der Glukagonpräparate betrug 400 $\mu\text{E}/\text{mg}$ Glukagon. Somit kann die im Plasmapool verdünnte Menge von 1 mg Glukagon die Seruminsulinkonzentration nicht signifikant beeinflussen. Die stimulierenden Substanzen Glucose, Glukagon und Tolbutamid sollen nach RYAN und Mitarbeitern

unterschiedliche Angriffspunkte an der B-Zelle haben, so daß sich ihr betazytotroper Effekt bei kombinierter Applikation verstärkt (4). Die vorausgehende Glucosegabe fördere den Insulinfreisetzungsmechanismus der Stimulantien Glukagon und Tolbutamid (4). Es wird angenommen, daß die Glucose ein Wandern der insulinenthaltenden Granula an die Peripherie der B-Zelle bewirke und die B-Zelle somit auf die Insulinfreisetzung durch Glukagon und Tolbutamid vorbereitet werde (4). Die hyperglykämische Wirkung des Glukagons wird durch das Tolbutamid unterdrückt. CROCKFORD und Mitarbeiter wiesen darauf hin, daß intravenös appliziertes Glukagon zu einem deutlichen Anstieg der IMI-Konzentration führe, der in keinem Verhältnis zu der nur geringfügigen Erhöhung der Blutglucosewerte stehe (1). Als gesichert darf gelten, daß die Kombination der 3 Substanzen Glucose, Glukagon und Tolbutamid die B-Zelle maximal zu stimulieren vermag. Höhere als die angewandten Dosen führen zu keiner weiteren Sekretionssteigerung. Ob andere Substanzen oder

Kombinationen dazu geeignet sind, muß noch sorgfältig geprüft werden. Das zunächst an stoffwechselgesunden Probanden getestete Verfahren zur maximalen B-Zellenstimulation ergibt die Möglichkeit, in Zukunft auch vergleichende Untersuchungen über die sekretorische Kapazität der funktionsgestörten B-Zelle durchzuführen.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren zur maximalen B-Zellenstimulation des menschlichen Inselapparates beschrieben, das an Stoffwechselgesunden geprüft wurde. Als Stimulantien dienten Glucose (100 g oral), Tolbutamid (0,5 g i.v.) und Glukagon (1 mg i.v.). Bei kombinierter Anwendung dieser Substanzen wurde eine mittlere maximale Insulin (IMI)-Konzentration von 829 $\mu\text{E}/\text{ml}$ Serum erzielt. Das Verfahren ist geeignet, die sekretorische Kapazität der B-Zellen unter maximalen Stimulationsbedingungen zu prüfen.

Literatur

- 1.) Crockford, P. M., Daniel Porte Jr.,
F. C. Wood Jr., R. H. Williams:
Effect of Glucagon on Serum Insulin,
Plasma Glucose and Free Fatty Acids
in Man.
Metabolism 15, 114 - 122 (1966)
- 2.) Keston, A.:
Abstr. of Papers, 129th Meeting
Amer. Chem. Soc., 69 c (1956)
- 3.) Niemann, E.:
Arbeitsanleitung zum Radioimmunbe-
steck der Farbwerke Hoechst, AG
(1970)
- 4.) Ryan, W. G., Nibbe, A. F., Schwartz, Th. B.:
Beta-cytotrophic effects of Glucose,
Glucagon and Tolbutamid in man.
Lancet 1, 1255 - 1256 (1967)

5.) Yalow, R. S. and Berson, S. A.:

Immunoassay of endogenous Plasma
Insulin in man.

J. Clin. Invest. 39, 1157 - 1175
(1960)

6.) Yalow, R. S. and Berson, S. A.:

Immunoassay of Plasma Insulin.

Meth. Biochem. Analysis XII, 69 - 96
(1964)

1. Entnahme von 5 ml Nüchternblut (BZ + IMI)
 2. Orale Belastung mit 100 g Glucose
 3. 30 Min. nach Glucosegabe erneute Entnahme von 5 ml Blut (BZ + IMI)
 4. Kombinierte i.v. Applikation von 1 mg Glukagon + 0,5 g Tolbutamid
 5. Weitere Blutentnahmen von je 5 ml (BZ + IMI)
 - a) 1 Minute
 - b) 5 Minuten
 - c) 10 Minuten
 - d) 20 Minuten
 - e) 30 Minuten
- } nach der kombinierten Injektion

Abb. 1:

Schema zur maximalen B-Zellenstimulation des menschlichen Inselapparates (modifiziert nach RYAN und Mitarbeitern).

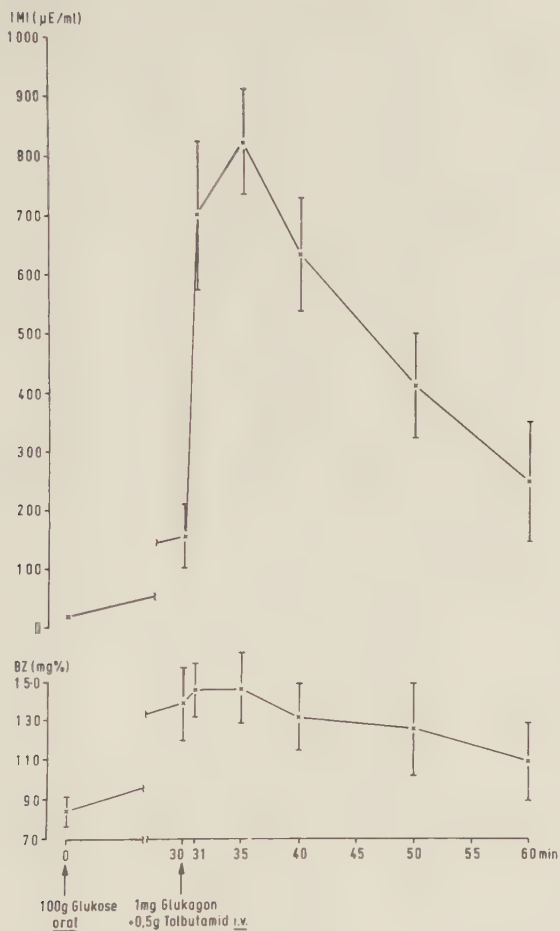


Abb. 2:

Immunologisch meßbares Insulin (IMI)- und Blutzucker-
verhalten während maximaler B-Zellenstimulation mit
Glucose, Tolbutamid und Glukagon bei Stoffwechselge-
sunden ($n = 10$): Mittelwert ($\bar{x}$) und 95 %-Vertrauens-
grenzen der Mittelwerte ($\bar{s}$).

Tab. 1: Immunologisch meßbares Insulin (IMI) während der maximalen B-Zellenstimulation des Inselapparates bei Stoffwechselgesunden ($n = 10$): Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (s) und Ergebnisse der zweifachen Varianzanalyse (p).

t	0'	30'	31'	35'	40'	50'	60'
$\bar{x}$	19,80	156,40	706,60	829,90	639,50	418,50	215,00
s	17,98	61,42	174,86	126,71	137,64	127,41	146,54
	$0,05 > p > 0,01$ $p < 0,005$ $0,05 > p > 0,01$ $p < 0,005$ $p < 0,005$ $p < 0,005$						

Tab. 2: Blutzuckerkonzentration während der maximalen B-Zellenstimulation des Inselapparates bei Stoffwechselgesunden ($n = 10$): Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (s) und Ergebnisse der zweifachen Varianzanalyse (p).

	0'	30'	31'	35'	40'	50'	60'
	83,90	138,80	145,30	146,50	131,80	126,40	109,50
	10,39	26,33	19,60	25,88	25,08	33,52	28,34
	$p < 0,005$ $p > 0,05$ $p > 0,05$ $p > 0,05$ $p > 0,05$ $0,05 > p > 0,01$						

Herrn Dr. W. Grabner und Herrn Prof. Dr. G. Berg
danke ich für die freundliche Unterstützung bei
der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Lebenslauf

Am 10. 11. 1941 wurde ich, Heinz Friedrich Clas, als Sohn des Zahnarztes Dr. Heinz Clas und seiner Ehefrau Erna, geb. Högner, als 2tes von 4 Kindern in Erlangen geboren. Im September 1948 trat ich in die Volksschule am Lutherplatz in Nürnberg ein. Ab 1952 besuchte ich das Humanistische Gymnasium in Nürnberg und wechselte dann in das Deutsche Gymnasium nach Niederalteich über, wo ich am 15. 7. 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1963/64 begann ich das Studium der Zahnmedizin in Erlangen. Dort legte ich am 2. 11. 1966 die zahnärztliche Vorprüfung ab. Auch den klinischen Teil des zahnärztlichen Studiums absolvierte ich in Erlangen an der Friedrich-Alexander-Universität. Dort bestand ich am 22. 7. 1969 das zahnmedizinische Staatsexamen. Seit August 1969 arbeite ich in der väterlichen Praxis in Nürnberg, Görlitzerstraße 28, als Assistent.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990